

Races de *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye en Afrique de l'Ouest et en Afrique Centrale

J.-C. Follin

I.R.C.T., Centre de Recherches du G.E.R.D.A.T., B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex.

RÉSUMÉ

L'analyse de souches de *Xanthomonas campestris* p.v. *malvacearum* (Smith) Dye provenant d'Afrique de l'Ouest (Sénégal, Haute-Volta, Côte-d'Ivoire) et d'Afrique Centrale (Cameroun, Tchad) indique que, dans les 5 pays, on trouve les races 16 et 18 sur *G. hirsutum*. En Haute-Volta et au Tchad, existe en plus, une race capable de dominer tous les gènes majeurs de résistance et les associations de gènes B_2B_3 et $B_{OL}B_{LOT}$.

La confrontation de 3 variétés de cotonniers sensibles à la bactériose

MOTS CLES : *G. hirsutum* ; *G. barbadense* ; *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, race 16, race 18, nouvelle race virulente sur B_2B_3 ; interactions différentielles quantitatives.

(*G. barbadense* et *G. hirsutum*) à deux souches de *X.c. malvacearum* isolées de *G. barbadense* et *G. hirsutum* montre que la possibilité de l'adaptation à l'espèce existe. Des interactions différentielles entre variétés sensibles et souches de bactéries sont mises en évidence et indiquent une relation non réductible en terme de résistance verticale ou horizontale. Le problème de la durabilité de la résistance partielle, non déterminée par des gènes majeurs, est posé.

La variation de la bactérie responsable de la bactériose du cotonnier a déjà fait l'objet de nombreuses études. Dès 1954, HUNTER (9) a signalé l'existence de 2 races aux Etats-Unis ; dix ans plus tard, BRINKERHOFF (4) en distinguait 12 et, en 1968, HUNTER et col. (10) proposaient une gamme de 3 variétés différentielles de l'espèce *G. hirsutum*, avec différents gènes majeurs de résistance. Cette gamme a permis l'identification de 18 races.

En Inde, NAYUDU (12) a complété ces résultats en mettant en évidence une spécialisation par espèce ; il détermine ainsi quatre races A, B, C et D. Les quatre races sont virulentes sur *G. barbadense* et *G. hirsutum*, B n'est pas virulente sur *G. herbaceum*, C ne l'est pas sur *G. arboreum* et D n'est virulente ni sur *G. arboreum*, ni sur *G. herbaceum*. Cet auteur différencie ensuite, à l'intérieur de chaque race, des biotypes suivant la réaction de différentes variétés d'une même espèce.

En Afrique de l'Est, également, CROSS (6) a montré qu'il existait de grandes différences dans le pouvoir pathogène de deux populations ; ARNOLD et BROWN (1), poursuivant ces travaux, attribuent ces différences à une variation continue de la virulence ne justifiant pas la création de races définies.

En Afrique de l'Ouest et du Centre, la culture de variétés possédant une très forte résistance, conférée par une association de gènes majeurs, a fait passer au second plan l'intérêt des recherches sur la bactériose, jusqu'en 1980, où l'apparition au Tchad et en Haute-Volta de dégâts sur des variétés ayant une résistance foliaire totale, a remis en question les résultats acquis et rendu nécessaire une prospection des races existantes. Les premiers tests montrèrent rapidement qu'une nouvelle race était en cause (7 ; 8).

Au cours de ces études de reconnaissance de races, une souche isolée de *G. barbadense* a donné des résultats particuliers qui ont conduit à tester si des variétés de *G. barbadense* et de *G. hirsutum*, sans gènes majeurs de résistance, donc sensibles à toutes les races, ne pouvaient cependant pas se distinguer par une plus ou moins grande sensibilité vis-à-vis des souches de bactéries suivant l'origine de ces dernières.

MATÉRIEL ET METHODES

La détermination des races se fait en inoculant les 10 variétés de la gamme de HUNTER (10) modifiée par BIRD (2), c'est-à-dire :

- Acala 44, témoin sensible ;
- Stoneville 2 BS 9 (gènes mineurs) ;
- Stoneville 20 (B_7) ;
- Mébane B 1 (B_2) ;
- 1.10 B (B_{10}) ;
- Stoneville 20-3 (B_8) ;
- 101-102 B (B_2B_3) ;
- Gregg (génome non précisé) ;
- Empire B 4 ;
- DPX P 4 (génome non précisé).

Les inoculations sont réalisées sur les feuilles cotylédonaire de plantules de 7 jours par scarification à l'aide d'une plume à dessin trempée dans une solution de concentration 10^6 à 10^4 bactéries par ml (11). L'incubation se fait dans une salle à température constante de 30° C avec 12 h de lumière, 12 h d'obscurité.

Les résultats sont lus 8 jours après et un grade de 1 à 5 est donné selon l'échelle de notation suivante :

1. réaction d'incompatibilité, pas de développement bactérien ;
2. pas de réaction d'incompatibilité, très léger développement bactérien par points isolés ;
3. développement bactérien par points isolés ;
4. développement d'une lésion uniforme le long de la blessure ;
5. large lésion, points d'infection à distance de la blessure.

La distinction entre 1 et 2 est parfois difficile et les scarifications sont complétées par une infiltration de la même solution de bactéries à l'aide d'une seringue dans 2 ou 3 feuilles cotylédonaire. La réaction d'incompatibilité est alors bien visible (dessèchement ou dessèchement et brunissement rapide).

Il est admis que la notation 1 caractérise, dans ces conditions, la résistance conférée par un gène majeur et qu'à partir de la notation 2 les différences dans les grades d'attaque sont dues à l'action de gènes mineurs. Il n'est pas certain que ce classement soit justifié pour tous les gènes ; cependant, plusieurs de nos souches testées à College station, Texas, par L.S. BIRD, ont donné, avec une autre technique d'inoculation, des résultats voisins (3).

Les feuilles d'où sont isolées les différentes souches de bactéries proviennent soit de variétés sensibles, sans gènes majeurs de résistance, c'est-à-dire principalement HAR L 299-10 et HAR L 142-9 ; soit pour la Haute-Volta et le Tchad, de variétés à l'origine immunes, possédant B_2B_3 ou $B_{OL}B_{LOT}$, mais présentant désormais des symptômes plus ou moins graves de bactériose.

Pour l'étude des interactions entre variétés sensibles de *G. hirsutum* et *G. barbadense*, 2 souches de bactéries ont été utilisées :

- HV, provenant de Haute-Volta, isolée de *G. hirsutum* var. L 299-10, virulente sur tous les gènes de résistance, mais pas sur l'association B_2B_3 ; elle correspond à la race 18 ;
- Ma, provenant du Mali, isolée de *G. barbadense* var. XL 25. Ces deux souches sont inoculées à 4 variétés sensibles à la bactériose :
 - Acala SJ 4 (*G. hirsutum*) ;
 - Acala 44 (*G. hirsutum*) ;
 - HAR L 299-10, hybride interspécifique *hirsutum* × *arboreum* × *raimondii*, croisé 3 fois en retour (Acala 2 fois, Allen 333 1 fois) ;
 - Pima S 4 (*G. barbadense*).

RÉSULTATS

Dans les pays où ne sont cultivées que des variétés dépourvues de gènes majeurs de résistance (Cameroun, Côte-d'Ivoire), seule la race 18 a été reconnue (tabl. 1). Au Sénégal, où 50 % environ des surfaces sont cultivées avec une variété sensible (L 299-10) et 50 % avec une variété possédant B_2B_3 (BJA 592),

la race 18 a été également caractérisée ; la variété résistante ne présente jamais de symptômes de bactériose.

Au Tchad et en Haute-Volta, où sont cultivées des variétés possédant B_2B_3 ou $B_{OL}B_{LOT}$, et où l'on peut observer des symptômes plus ou moins graves de bactériose suivant les

variétés, une nouvelle race a été mise en évidence. Pour la gamme utilisée, cette race est universellement virulente, c'est-à-dire qu'elle peut surmonter tous les gènes de résistance pris séparément, comme la race 18, mais également l'association B₂B₃ (tabl. 1 et 2).

TABLEAU 1. — Nombre de souches isolées et testées (entre parenthèses, le grade moyen d'attaque des variétés sensibles).

Echelle de 1 (résistance) à 5 (sensibilité).

TABLE 1. — Number of isolated and tested strains (within brackets is the average degree of attack of susceptible varieties).

Scale from 1 (resistance) to 5 (susceptibility).

Pays Countries	race 16	race 18	nouvelle race new race	race non classée unclassified race
Cameroun Cameroon		3 (4.0)		
Côte-d'Ivoire Ivory Coast		3 (3.9)		
Haute-Volta Upper Volta	2 (3.9)	3 (4.3)	5 (3.1)	
Mali				1 (3.7)
Malï				
Sénégal Senegal		3 (4.2)		
Tonad Chad	1 (4.0)		2 (3.2)	

TABLEAU 2. — Grades moyens d'attaque des variétés devant les différentes races isolées (échelle de 1 à 5).

TABLE 2. — Average degrees of attack of the varieties before different isolated races (scale from 1 to 5).

Variétés Varieties	Haute-Volta Upper Volta			Tchad Chad		Mali	Autres pays other countries
	race 16 (2)	race 18 (3)	nouv. race new race (4)	race 16 (1)	nouv. race new race (2)	race non class. unclas- sified race	race 18 (9)
Acala 44	3.9	4.4	2.7	4.4	2.8	4.3	4.2
Stoneville 2059	4.3	4.4	3.1	4.2	3.6	4.0	4.1
Stoneville 20	2.6	2.6	2.3	3.5	2.6	2.2	2.9
Mebane B1	4.4	4.6	3.5	4.7	3.7	4.6	4.4
1-10 B	1.0	4.9	3.2	1.0	3.2	1.0	4.6
Stoneville 20-3	3.2	4.0	3.3	3.3	3.5	1.0	3.7
101-102B							
(B2B3)	1.0	1.0	3.7	1.0	3.5	1.0	1.0
Gregg	4.9	4.9	3.2	4.1	3.4	5.0	4.6
Empire B4	3.5	4.2	2.7	3.5	2.9	2.1	3.8
DPxP4	4.3	4.7	3.5	4.0	3.3	1.0	4.3
moyenne (var. sensibles)	3.9	4.3	3.1	4.0	3.2	3.7	4.1
average (suscept. var.)							

Cette race se caractérise également par un grade moyen d'attaque inférieur à celui des races 16 et 18 sur les variétés sensibles communes; son agressivité est donc inférieure.

La variété 101-102 B, lorsque sa résistance est surmontée, se montre plus sensible que le témoin sensible Acala 44.

Sur les variétés sensibles, dans les essais variétaux, on trouve seulement les races 16 et 18.

Au Mali, la souche isolée, Ma₁, ne correspond à aucune race répertoriée et cette souche diffère aussi de la race 18 par son agressivité sur certaines variétés. En effet, les grades d'attaque (tabl. 3 et 4) donnés par HV₂ (race 18) et Ma₁ sur les trois

variétés inoculées ne varient pas dans le même sens; il y a interaction et cette interaction est significative au seuil P = 0,01

(analyses après transformations en Arc sin $\sqrt{\frac{x}{100}}$).

TABLEAU 3. — Grade moyen d'attaque de 2 souches de *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* sur 3 variétés de cotonnier: Pima S4 (*G. barbadense*), Acala SJ4 et L 299-10 (*G. hirsutum*) (échelle de 1 à 5).

TABLE 3. — Average degree of attack of 2 strains of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* on 3 varieties of cotton plants: Pima S4 (*G. barbadense*), Acala SJ4 and L 299-10 (*G. hirsutum*) (scale from 1 to 5).

Variétés Varieties	HV ₂	Ma ₁
Pima S4	3.1	4.1
L299-10	4.0	3.0
Acala SJ4	4.0	4.5

TABLEAU 4. — Grade moyen d'attaque de 2 souches de *X.c.* pv. *malvacearum* sur 3 variétés de cotonnier: Pima S4, Acala 44 et L 299-10.

TABLE 4. — Average degree of attack of 2 strains of *X.c.* pv. *malvacearum* on 3 varieties of cotton plants: Pima S4, Acala 44 and L 299-10.

Variétés Varieties	HV ₂	Ma ₁
Pima S4	3.0	4.7
L299-10	3.9	3.2
Acala SJ4	4.0	4.1

Pour la première série d'inoculation, les différences significatives sont les suivantes:

- Entre souches sur une même variété (C.V. = 5,45 %)

	HV ₂ et Ma ₁
Pima S4	significatif à P = 0,01
L 299-10	" à P = 0,01
Acala SJ4	" à P = 0,01

- Entre variétés pour une même souche (C.V. = 5,40 %)

	HV ₂	Ma ₁
Pima S4	A	B'
L 299-10	B	A'
Acala 44	B	B'

Sur Pima S4, Ma₁ est plus agressive que HV₂.

Sur L 299-10, Ma₁ est moins agressive que HV₂.

Il y a donc une interaction significative forte entre *G. hirsutum* (L 299-10), *G. barbadense* (Pima S4) et HV₂, Ma₁.

Acala SJ4 est très sensible aux deux souches (bien que Ma₁ soit plus agressive) ce qui entraîne deux autres interactions, mais d'un type différent, que l'on peut qualifier de faible (19) ou de type « quadratique » (18).

Dans la deuxième série d'inoculation, Acala 44 remplace Acala SJ4 et l'analyse des résultats donne les différences significatives suivantes:

- Entre souches sur une même variété (C.V. = 6,1 %)

	HV ₂ et Ma ₁
L 299-10	significatif à P = 0,01
Pima S4	" à P = 0,01
Acala 44	non significatif

- Entre variétés pour une même souche (C.V. = 4,3 %)

	HV ₂	Ma ₁
Pima S4	A	C'
L 299-10	B	A'
Acala 44	B	B'

On retrouve les mêmes types d'interactions que dans la première série.

DISCUSSION

Dans les inoculations sur la gamme de variétés différentielles, on observe deux types de réaction. En premier lieu, une réac-

tion qualitative qui caractérise l'interaction de la virulence du pathogène et de la résistance conférée par un gène majeur; en

second lieu, une réaction quantitative, résultant de la confrontation de l'agressivité de la bactérie et de la résistance conférée par des gènes mineurs. Toutes les variétés sensibles ne sont pas équivalentes devant une même race. Stoneville 20, par exemple, conserve toujours une résistance élevée, même si elle n'est plus totale, et une même variété peut réagir différemment à deux races virulentes. En effet, les souches virulentes sur tous les gènes majeurs pris séparément et sur l'association de deux de ces gènes B_2B_3 ont une agressivité inférieure aux races 16 et 18 non virulentes sur B_2B_3 ; on retrouve là un fait observé chez de nombreux pathogènes où l'agressivité diminue lorsque le nombre de gènes de virulence augmente (16; 17). Dans le cas de *X.c. malvacearum*, il semble cependant que le nombre de gènes de virulence ne soit pas en cause, mais plutôt la virulence sur les deux gènes associés B_2B_3 , car la race 18 est virulente sur tous les gènes pris séparément et conserve une agressivité élevée.

Il est étonnant de trouver dans des régions cultivées avec des variétés sans gènes majeurs de résistance (Côte-d'Ivoire, Cameroun) des races possédant tous les gènes de virulence sur des gènes de résistance non utilisés. Ce fait est déjà signalé par BRINKERHOFF, en 1963, sur des souches provenant d'Ouganda. Il s'agit donc de gènes de virulence qui ne sont pas éliminés lorsqu'ils sont inutiles. Avec la nouvelle race, moins agressive, la situation est certainement différente et cette race est probablement rapidement éliminée si le facteur B_2B_3 disparaît, ce qui expliquerait qu'elle n'a pas été isolée de variétés sensibles.

Enfin, cette race n'a encore été signalée dans aucun autre pays et la question se pose de son apparition pour la première fois dans des zones où les surfaces cotonnières sont faibles comparées à celle d'autres pays. Ceci peut être dû à la nature de la relation hôte-parasite. En Afrique tropicale, les cotonniers sont rarement arrachés en fin de campagne et ne se dessèchent pas totalement pendant l'intersaison; il y a donc une relation continue entre la bactérie et son hôte, ce qui entraîne une pression de sélection sur de nouvelles races, supérieure à celle existant dans les grands pays cotonniers (Etats-Unis, U.R.S.S., Asie Mineure, Chine) où il existe une saison froide et donc une rupture du cycle.

La première partie de cette étude s'accorde très bien avec les concepts définis par VAN DER PLANK (15) et on peut évoquer les notions de résistances verticale et horizontale.

Ces concepts sont, par contre, d'une utilité moins évidente, pour expliquer des réactions différentielles entre les deux souches HV₁ et Ma, avec des variétés sensibles, donc sans gènes majeurs de résistance, mais avec toutefois des facteurs de résistance leur permettant au moins d'éviter la disparition totale en cas d'attaque.

Des interactions différentielles sans spécificité dans le couple cotonnier-*X.c. malvacearum* ont déjà été signalées par VAN DER PLANK (17) qui se fonde sur les travaux de CROSSE (6) mettant en évidence l'apparition d'une nouvelle population susceptible d'attaquer des variétés de *G. barbadense* et de *G. hirsutum* sélectionnées pour la résistance. En réalité, dans ces travaux, le caractère quantitatif de la relation est dû à la technique d'inoculation; la bactérie est injectée dans l'hypocotyle de plantules et la lésion formée est mesurée après divers laps de temps. Il semble qu'avec cette technique, on puisse obtenir un résultat appréciable, quel que soit le couple cotonnier-bactérie en cause. ARNOLD et BROWN (1), en utilisant la même technique, retrouvent des résultats voisins de ceux de CROSSE et attribuent une variation continue à la virulence des différentes souches. Ceci les conduit à nier la validité de distinguer des races dans des catégories bien définies; contrairement à BRINKERHOFF (4) qui,

utilisant l'inoculation des cotylédons, obtient des réactions nettes lorsqu'il y a incompatibilité.

Par ailleurs, les résultats de CROSSE traduisent des réactions différentielles quantitatives avec des variétés possédant des gènes majeurs de résistance. Dans les résultats présents, il s'agit d'un autre problème puisque les variétés utilisées ne possèdent qu'un potentiel faible de résistance que l'on peut considérer comme déterminé par des gènes mineurs. La variété de *G. barbadense* (Pima S4) est très sensible à la souche isolée de *G. barbadense* (BAR x L25) et moins sensible à la souche isolée de *G. hirsutum* (L299-10); pour une variété de *G. hirsutum* (L299-10), on observe la situation inverse. Tout se passe comme si chacune de ces variétés possédait des facteurs de résistance auxquels se serait adaptée la souche qui lui est propre, mais encore efficaces sur la souche de l'autre variété. Cette réaction différentielle ne contredit pas les travaux de NAYUDU (12) car, comme pour cet auteur, les deux espèces sont sensibles; les différences résident dans le degré de sensibilité et montrent qu'une adaptation à l'espèce est également possible au niveau de la relation sensibilité-agressivité. Ces résultats se retrouvent d'ailleurs dans les travaux de NAYUDU, mais n'ont pas été exploités sous cet aspect.

Pour les deux variétés d'Acala, la situation est différente car elles sont très sensibles aux deux races. Il est probable qu'elles sont dépourvues des facteurs de résistance existant chez L299-10 et Pima S4.

La variété L299-10, considérée à son origine comme ayant une assez bonne tolérance, héritée de l'Alien 333, ne présente pas dans ces inoculations une résistance supérieure à l'Acala lorsqu'elle est inoculée par HV₁; par contre, elle résiste mieux devant Ma. Il est possible que cette résistance partielle ait été surmontée par de nouvelles races.

Sur le plan théorique, il faut remarquer que des résistances partielles non déterminées par des gènes majeurs, considérées généralement, chez le cotonnier, comme d'origine polygénique et classées comme résistances horizontales (5) donnent lieu à des réactions différentielles. Ceci montre que, pour la bactériose du cotonnier, la séparation stricte entre résistance verticale et résistance horizontale ne peut rendre compte de toutes les données expérimentales et qu'entre l'hôte et son parasite, peuvent exister des interactions dans les relations quantitatives, comme cela a déjà été mis en évidence pour d'autres couples (13; 15). PARLEVLIET et ZADOKS (14) ont ainsi été conduits à formuler une nouvelle hypothèse selon laquelle chaque gène de résistance, qu'il ait un effet majeur ou mineur, pourrait être dominé par l'agent pathogène. La durabilité de la résistance polygénique serait donc liée aux différents degrés dans la difficulté à contourner un mécanisme de résistance. Elle pourrait être plus ou moins longue, mais ne serait plus définitive.

D'un point de vue pratique, pour les travaux de sélection de la résistance à la bactériose, il est important de considérer que les souches de *X.c. malvacearum* isolées de *G. barbadense* et de *G. hirsutum* peuvent être différentes dans leur virulence et leur agressivité. Il est donc nécessaire d'adapter des schémas de sélection propre à chaque espèce et, dans les inoculations artificielles en plein champ, d'utiliser un inoculum provenant de l'espèce à inoculer. Par ailleurs, l'apparition d'une nouvelle race, capable de dominer les associations de gènes majeurs, remet en question les schémas traditionnels de sélection. Il devient nécessaire d'ajouter à la résistance conférée par B_2B_3 (qu'il est indispensable de conserver contre les races 16 et 18, très agressives), une résistance partielle la plus élevée possible. Le problème est posé de savoir si cette résistance partielle sera de longue durée.

RÉFÉRENCES

1. ARNOLD M.H. and BROWN S.J., 1968. — Variation in the host-parasite relationship of a crop disease. *J. agric. Sci.*, 71, 19-36.
2. BIRD L.S., 1981. — Report of the bacterial blight Committee. *Proc. Beltw. Cott. Res. Conf. New Orleans*, 1981, 6-7.
3. BIRD L.S., THAXTON P. and LIVERMAN C., 1983. — New races of *X. malvacearum*. Report of the bacterial blight Committee. *Proc. Beltw. Cott. Res. Conf. San Antonio*.
4. BRINKERHOFF L.A., 1963. — Variability of *Xanthomonas malvacearum*, the cotton bacterial blight pathogen. *Okla. Agric. Exp. Techn. Bull.*, 598, 1, 96.
5. BRINKERHOFF L.A., 1970. — Variations in *Xanthomonas malvacearum* and its relation to control. *Ann. rev. Phytopath.*, 8, 85-110.
6. CROSSE J.E., 1963. — Pathogenicity differences in Tanganyika populations of *Xanthomonas malvacearum*. *Emp. Cott. grow. Rev.*, 41, 45-48.
7. FOLLIN J.-C., 1982. — Mise en évidence de races de *Xanthomonas malvacearum* virulentes sur l'association de gènes B_2B_3 chez *G. hirsutum*. *Cot. Fib. trop.*, 36, 4, 353.
8. GUIBORDEAU P. et YEHOUSSI M.T., 1982. — Réaction différentielle de la variété J193 (*G. hirsutum* L.) après infection artificielle au champ réalisée à partir de deux inoculums différents de *X. malvacearum*. *Cot. Fib. trop.*, 37, 2, 225.
9. HUNTER R.E. and BLANK L.M., 1954. — Pathogenicity differences of *Xanthomonas malvacearum* isolates. *Phytopath.*, 44, 332.
10. HUNTER R.E., BRINKERHOFF L.A. and BIRD L.S., 1968. — The development of a set of Upland cotton lines for differentiating races of *Xanthomonas malvacearum*. *Phytopath.*, 58, 830-832.
11. MAHILL J.F. and DICK D., 1978. — Influence of male sterile and normal cytoplasm on the expression of bacterial blight in cotton hybrids. *Crop Sci.*, 17, 440-443.

12. NAYUDU M.V., 1964. — Variation in *Xanthomonas malvacearum*. *Indian Cott. grow. Rev.*, 18, 350-355.
13. PARLEVLIET J.E., 1977. — Evidence of differential interaction in the polygenic *Hordeum vulgare-Puccinia hordei* relation during epidemic development. *Phytopath.*, 67, 776-778.
14. PARLEVLIET J.E. and ZADOKS J.C., 1977. — The integrated concept of disease resistance, a new view including horizontal and vertical resistance in plants. *Euphytica*, 26, 5-21.
15. De VALAVIEILLE C., 1983. — Contribution à l'étude de la structure de la population de *Phytophthora* sp. inféodée aux agrumes de la plaine orientale corse. *Thèse doctorat Orsay-Paris Sud*, 63 p.
16. VAN DER PLANK J.E., 1968. — Disease resistance in plants. *Academic Press, New York and London*, 206 p.
17. VAN DER PLANK J.E., 1973. — Genetic and molecular basis of plant pathogenesis. *Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York*, 168 p.
18. VAN DER PLANK J.E., 1982. — Host-pathogen interactions in plant disease. *Academic Press, New York and London*, 207 p.
19. ZADOKS J.C. and SCHEIN R.D., 1979. — Epidemiology and plant disease management. *Oxford University Press*, 427 p.

Races of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye in Western and Central Africa

J.-C. Follin

I.R.C.T., Centre de Recherches du G.E.R.D.A.T., B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex.

SUMMARY

The analysis of strains of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye coming from Western Africa (Senegal, Upper Volta, Ivory Coast) and from Central Africa (Cameroon, Chad) shows that in these 5 countries, we find races 16 and 18 on *G. hirsutum*. A race also exists, in Upper Volta and in Chad which can overcome all the major genes of resistance and the associations of B_2B_3 and $B_{6L}B_{10L}$ genes.

The confrontation of 3 varieties of cotton plants which are susceptible to

bacteriosis (*G. barbadense* and *G. hirsutum*) with two strains of *X.c. malvacearum* isolated from *G. barbadense* and *G. hirsutum* shows that adaptation to the species is possible. Differential interactions between susceptible varieties and strains of bacteria are pointed out and indicate a relationship which cannot be expressed in terms of vertical or horizontal resistance. The problem of the durability of the partial resistance, not determined by major genes, is raised.

KEY WORDS : *G. hirsutum* ; *G. barbadense* ; *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* race 16, race 18, new race virulent on B_2B_3 ; quantitative differential interactions.

Many studies have already been done about the variation of the bacterium which is responsible for the bacteriosis of the cotton plant. As far back as 1954, HUNTER (9) reported the existence of 2 races in the United States; ten years later, BRINKERHOFF (4) distinguished 12 races, and, in 1968, HUNTER *et al.* (10) proposed a series of 8 differentiating varieties of the *G. hirsutum* species, with different major genes of resistance. This series permitted the identification of 18 races.

In India, NAYUDU (12) completed these results by establishing a specialisation according to species; he thus determined four races, A, B, C, and D. The four races are virulent on *G. barbadense* and *G. hirsutum*, B is not virulent on *G. herbaceum*, C is not virulent on *G. arboreum*, and D is virulent neither on *G. arboreum* nor on *G. herbaceum*. Then, this author differentiates certain biotypes within each race according to the reactions of different varieties of the same species.

In Eastern Africa too, CROSSE (6) showed that there were important differences in the pathogenicity of two populations; ARNOLD and BROWN (1), carrying on with these studies, ascribe

these differences to continuing variations of the virulence which therefore do not justify the creation of distinct races.

In Western and Central Africa, the cultivation of varieties that possess a very strong resistance, due to an association of major genes, permitted the interest in the research into the bacteriosis to pass into the background till 1980. At that time, the apparition in Chad and Upper Volta of damages on varieties which had total foliar resistance made it necessary to review the previously established results and to prospect existing races. The first tests rapidly showed that a new race was involved (7; 8).

During these race-recognition studies, an isolated strain of *G. barbadense* gave particular results which led us to test whether varieties of *G. barbadense* and of *G. hirsutum* without any major genes of resistance, therefore susceptible to all the races, could not, in any case, be distinguished by a greater or lesser susceptibility towards certain strains of bacteria, according to the origin of these bacteria.

MATERIAL AND METHODS

Races are determined by inoculating the 10 varieties of HUNTER's series (10) modified by BRD (2), i.e.:

Acala 44, susceptible check sample;

Stoneville 2 BS 9 (minor genes);

Stoneville 20 (B_7);

Mébané B1 (B_1);

1.10 B (B_{10});

Stoneville 20-3 (B_N);

101-102 B (B_6B_9);

Gregg (unspecified genome);

Empire B4;

DPX P4 (unspecified genome).

The inoculations are carried out on cotyledonary leaves from 7 days old seedlings by scarification with a drawing-pen dipped in a concentrated solution of 10^{10} to 10^{11} bacteria per ml (11). The incubation takes place in a room with a constant temperature of 30° C and with 12 h of light and 12 h of darkness.

The results are read 8 days later and a grade of 1 to 5 is given according to the following scale of notation:

1. reaction of incompatibility, no bacterial development;
2. no reaction of incompatibility, very slight bacterial development in isolated spots;
3. bacterial development in isolated spots;
4. development of a uniform lesion along the wound;

5. large lesion, infected spots distant from the wound.

The distinction between 1 and 2 is sometimes difficult and the scarifications are completed by an infiltration of the same solution of bacteria in 2 or 3 cotyledonary leaves, injected by a syringe. The reaction of incompatibility is then clearly seen (parching or rapid parching and browning).

We assume that a grade of 1 characterizes, in these conditions, the resistance due to a major gene and that from grade 2 on, the differences in the degrees of attacks are the results of the action of minor genes. It is not certain that this classification is justified for all the genes; however, many of our strains which were tested in College Station, Texas, by L.S. BRD, gave, with another technique of inoculation, similar results (3).

The leaves from which the different strains of bacteria are isolated come either from susceptible varieties, without any major genes of resistance, i.e., chiefly HAR L299-10 and HAR L142-9; or in the case of Upper Volta and Chad, from varieties originally immune, possessing B_2B_3 or $B_{6L}B_{10L}$, but presenting henceforth more or less serious symptoms of bacteriosis.

Concerning the study of interactions between susceptible varieties of *G. hirsutum* and *G. barbadense*, 2 strains of bacteria were used:

- HV₀ coming from Upper Volta, isolated from *G. hirsutum* var. L 299-10 and virulent for all resistance genes, except for the B₂B₃ association, corresponds to race 18;
- Ma₁ coming from Mali, isolated from *G. barbadense* var. XL 25. These two strains are inoculated to 4 varieties which are susceptible to bacteriosis:

- Acala SJ4 (*G. hirsutum*);
- Acala 44 (*G. hirsutum*);
- HAR L 299-10, interspecific hybrid *hirsutum* × *arborescens* × *rainmondii* backcrossed three times (2 times Acala, 1 time Allen 333);
- Pima S4 (*G. barbadense*).

RESULTS

In countries where only varieties devoid of major genes of resistance are cultivated (Cameroon, Ivory Coast), only the race 18 was recognized (table 1). In Senegal, where approximately 50% of the areas are planted with a susceptible variety (L 299-10), and the other 50% with a variety which possess B₂B₃ (BJA 592), the race 18 has also been noted, the resistant variety never presents any symptom of bacteriosis.

In Chad and in Upper Volta, where varieties which possess B₂B₃ or B₀L B₁SL are cultivated, and where we can observe more or less serious symptoms of bacteriosis according to the variety, we established the existence of a new race. This race is universally virulent for the series which we used, i.e., it can overcome all the genes of resistance taken separately, just like race 18, but also the B₂B₃ association (tables 1 and 2).

This race is also distinguished by an average degree of attack which is lower than races 16 and 18 on common susceptible varieties, its aggressiveness is hence lower.

When its resistance is matched, the 101-102 B variety appears to be more susceptible than the susceptible check Acala 44.

As for susceptible varieties, in the varietal tests, we only find races 16 and 18.

In Mali, the isolated strain Ma₁ does not correspond to any indexed race and this strain is also different from race 18 because of its aggressiveness on certain varieties. Indeed, the degrees of attacks (tables 3 and 4) given by HV₀ (race 18) and Ma₁ on the three inoculated varieties do not vary in the same way: there is an interaction which is significant on the three-

hold $P = 0.01$ (analysis after transformations in $\text{Arc sin} \sqrt{\frac{x}{100}}$).

Concerning the details of the first series of inoculation, the significant differences are the following:

- 1) Between strains on the same variety (C.V. = 5.45%)

	HV ₀ and Ma ₁
Pima S4	significant at $P = 0.01$
L 299-10	" at $P = 0.01$
Acala SJ4	" at $P = 0.01$

- 2) Between varieties for the same strain (C.V. = 5.40%)

	HV ₀	Ma ₁
Pima S4	A	B'
L 299-10	B	A'
Acala 44	B	B'

On Pima S4, Ma₁ is more aggressive than HV₀.

On L 299-10, Ma₁ is less aggressive than HV₀.

So, there is a strong significant interaction between *G. hirsutum* (L 299-10), *G. barbadense* (Pima S4) and HV₀, Ma₁.

Acala SJ4 is very susceptible to both strains (though Ma₁ is more aggressive), and this leads to two other interactions, but of a different kind, which we can qualify as "weak" (19) or of a "quadratic" kind (18).

In the second series of inoculation, Acala 44 takes the place of Acala SJ4 and an analysis of the results reveals the following significant differences:

- 1) Between strains on the same variety (C.V. = 6.1%)

	HV ₀ and Ma ₁
Pima S4	significant at $P = 0.01$
L 299-10	" at $P = 0.01$
Acala 44	not significant

- 2) Between varieties for the same strain (C.V. = 4.3%)

	HV ₀	Ma ₁
Pima S4	A	C'
L 299-10	B	A'
Acala 44	B	B'

We find the same kind of interactions as in the first series.

DISCUSSION

In the inoculations on the series of differential varieties, we observe two kinds of reaction. Firstly, a qualitative reaction which characterizes the interaction of the virulence of the pathogen with the resistance due to a major gene, secondly, a quantitative reaction, which is the result of the confrontation between the aggressiveness of the bacterium and the resistance due to minor genes. All susceptible varieties do not react equivalently to the same race. Stoneville 20, for instance, maintains a fairly high, although no longer total, resistance and a same variety can react differently to two virulent races. Indeed, the strains which are virulent on all the major genes taken separately and on the association of both of these genes (B₂B₃), have a lower aggressiveness than races 16 and 18 which are not virulent on B₂B₃; we find here a fact that has been observed in many pathogens whose aggressiveness diminishes when the number of genes of virulence increases (16; 17). As for *X.c. malvacearum*, it seems, however, that the number of genes of virulence is not called in question but rather the virulence on the two associated genes B2 B3, because race 18 is virulent on all the genes taken separately and maintains a high aggressiveness.

It is surprising to find in regions where varieties without any major genes of resistance are cultivated (Ivory Coast, Cameroon), races possessing all the genes of virulence on genes of resistance which are not used. This fact was already reported by BRINKERHOFF in 1963 on strains coming from Uganda. It is a question therefore of genes of virulence that are not eliminated when they are useless. With the new race, less aggressive, the situation is certainly different and this race is probably rapidly eliminated if the B2 B3 factor disappears. This would explain that it has not been isolated from susceptible varieties.

Finally, this race has not yet been reported in any other country and we may wonder about its apparition for the first time in areas where there is a relatively low concentration of cotton compared to areas in other countries. This can be linked to the nature of the host-parasite relationship. In tropical Africa, the cotton plants are rarely dug up at the end of the agricultural year and do not completely dry up during the off season; there is hence a continuous relationship between

the bacterium and its host, and this leads to a selection pressure on new races, superior to the pressure existing in the large cotton-growing countries (United States, U.S.S.R., Asia Minor, China) where there is a cold season and therefore a rupture in the cycle.

The first part of this study agrees perfectly with the concepts formulated by VAN DER PLANK (15) and we can therefore speak of the notions of vertical and horizontal resistance.

However, these concepts appear less useful for explaining the differential reactions of both strains HV₀ and Ma₁ with susceptible varieties, thus without any major genes of resistance, but possessing nonetheless, factors of resistance which prevent in any case a complete disappearance in case of attack.

Differential interactions without specificity in the couple cotton plant-*X.c. malvacearum* have already been mentioned by VAN DER PLANK (17) which rely on the works of CROSSE (6) that bring to the fore the apparition of a new population likely to attack varieties of *G. barbadense* and *G. hirsutum* selected for their resistance. In fact, in these works, the quantitative nature of the relationship is due to the technique of inoculation: the bacterium is injected in the seedling hypocotyl and the lesion which is formed is measured after various lengths of time. It seems that, with this technique, we can obtain an appreciable result no matter which cotton plant-bacterium couple is used. ARNOLD and BROWN (1), using the same technique, find similar results to those of CROSSE's and assign a continuous variation to the virulence of the different strains. This leads them to deny the validity of distinguishing races in well defined categories, in contrast to BRINKERHOFF (4) who, using the inoculation of the cotyledons, gets clear reactions when there is incompatibility.

In other respects, the results of CROSSE express quantitative differential reactions with varieties that possess major genes of resistance. In these results, another problem is raised since the varieties which are used possess only a low potential of resistance we can consider as determined by minor genes. The variety of *G. barbadense* (Pima S4) is very susceptible to the isolated strain of *G. barbadense* (BAR × L 25) and less susceptible to the isolated strain of *G. hirsutum* (L 299-10); for a variety of *G. hirsutum* (L 299-10), we observe the opposite situation. Eve-

rything happens as if each of these varieties possess factors of resistance to which the appropriate strain would have adapted itself, but still effective on the strain of the other variety. This differential reaction does not refute the works of NAYUDU (12), because, as this author found, the two species are susceptible, the differences pertain to the degree of susceptibility and show that an adaptation to the species is also possible at the level of the relation susceptibility-aggressiveness. Moreover, these results can be found in the works of NAYUDU but were not examined from this aspect.

Concerning the two varieties of Acala, the situation is different because both are very susceptible to the two races. It is probable that they are deprived of the factors of resistance which exist in L 299-10 and Pima S 4.

The L 299-10 variety, originally considered as having a fairly good tolerance, inherited from the Allen 333, does not present, in these inoculations, a resistance higher than that of the Acala when it is inoculated by HV₁. On the other hand, it shows a better resistance to Ma₁. It is possible that this partial resistance has been matched by new races.

On the theoretical level, we must mention that partial resistances which are not determined by major genes — and are generally considered in cotton plants as having a polygenic origin and classified as horizontal resistances (5) — give differential reactions. This proves that for the bacteriosis of the cotton plant, the strict separation between vertical and hori-

zontal resistances cannot take into account all of the experimental data and that certain interactions in the quantitative relations may exist between the host and its parasite, as it was already pointed out for other couples (13; 15). PARLEVLIET and ZWOKS (14) were led, for these reasons, to formulate a new hypothesis according to which each gene of resistance, having either a major or minor effect, could be overcome by the pathogenic agent. The durability of the polygenic resistance might thus be linked to the different degrees of difficulty involved in by passing a mechanism of resistance. Resistance that might be long or short term, but could no longer be definitive.

From a practical point of view, when one studies the selection of resistance to bacteriosis, it is important to consider that the strains of *X.c. malvacearum* isolated from *G. barbadense* and *G. hirsutum* can be different in their virulence and aggressiveness. So, it is necessary to adapt appropriate diagrams of selection for each species, and in the artificial inoculations performed in the field, to use an inoculum coming from the species which is to be inoculated. Hence, the apparition of a new race, able to overcome the associations of major genes forces us to question the traditional diagrams of selection. It becomes necessary to add to the resistance given by B₂B₃ (which must be preserved from the very aggressive races 16 and 18), the highest possible partial resistance. The problem remains to find out whether this partial resistance will last or not.

RESUMEN

El análisis de cepas de *Xanthomonas campestris* ov. *malvacearum* (Smith) Dye provenientes de África del Oeste (Senegal, Alto-Volta, Costa de Marfil) y de África central (Camerún, Chad) indica que existen en estos cinco países, las razas 16 y 18 sobre *G. hirsutum*. Se encuentra además en el Alto-Volta y el Chad una raza capaz de dominar todos los genes mayores de resistencia y las asociaciones de genes B₂B₃ y B₀L₁B₁₀L.

Al confrontar tres variedades de algodóneros sensibles a la bacteriosis (*G. barbadense* y *G. hirsutum*) con dos cepas de *X.c. malvacearum* aisladas de *G. barbadense* y *G. hirsutum*, resulta que la posibilidad de adaptación a la especie existe. Interacciones diferenciales entre variedades sensibles y cepas de bacterias son puestas en evidencia e indican una relación que no puede traducirse en términos de resistencia vertical u horizontal. Se plantea el problema de la durabilidad de la resistencia parcial que no es producida por genes mayores.